

# Beiträge zur Kenntnis des biologischen Säureabbaues in unvergorenen und vergorenen Obst- und Traubensäften. Teil II, Ueber die wachstumsfördernde Wirkung von Hefeextrakt auf einige Milchsäurebakterien, welche den biologischen Säureabbau in Weinen erzeugen

Autor(en): Lüthi, H. / Vetsch, U.

Objektyp: Article

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **50 (1959)**

Heft 4

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983427>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Beiträge zur Kenntnis des biologischen Säureabbaues in unvergorenen und vergorenen Obst- und Traubensäften

II. Ueber die wachstumsfördernde Wirkung von Hefeextrakt  
auf einige Milchsäurebakterien, welche den biologischen Säureabbau  
in Weinen erzeugen \*)

Von *H. Lüthi* und *U. Uetsch*

(Eidg. Versuchsanstalt Wädenswil (Schweiz))

(Vortrag gehalten am Symposium on Lactobacilli of the Brit. Society of Applied Bacteriology, London, 7. Juli 1959, Englischer Text erscheint im J. Appl. Bact.)

Der biologische Säureabbau ist für die klimatisch weniger begünstigten Randgebiete des Weinbaues von sehr grosser Bedeutung. Nur selten gibt man sich Rechenschaft darüber, dass die Jungweine aus diesen Produktionszonen zufolge ihres hohen Säuregehaltes in der Regel so unharmonisch sind, dass sie nicht ohne Weiterausbau getrunken werden können.

Die Gesamtsäure der Weine besteht ja etwa zur Hälfte aus Weinsäure und Aepfelsäure. Während der Periode des Ausbaues muss sie sich von durchschnittlich 7 bis 10 g/l auf einen Gehalt von etwa 4 bis 5 g/l reduzieren. Eine teilweise künstliche Entsäuerung mit Calciumcarbonat ist in den meisten Ländern gestattet. Sie allein genügt aber nicht zur Erzielung von Qualitätsweinen. Das Belassen der Aepfelsäure würde dem Weine einen unreifen Geschmack und Charakter erhalten und nie zu einem harmonischen Produkte führen. Neuere Bestrebungen, die Harmonie solcher Weine durch einen Zuckerrest künstlich zu schaffen, werden von den Freunden des Weines abgelehnt. Neben der alkoholischen Gärung steht in vielen Weinbaugebieten der biologische Säureabbau darum auch heute noch im Zentrum der Entwicklung eines Qualitätsproduktes. Durch die bakteriologische Umwandlung der Aepfelsäure in Milchsäure und Kohlensäure wird der Wein gleichzeitig säureärmer, geschmacklich reifer und ausgeglichener.

Dieser wichtige Vorgang in der Entwicklung eines Weines tritt leider nicht mit jener Regelmässigkeit und Selbstverständlichkeit ein, wie die alkoholische Gärung eines Traubenmostes. Trotz Förderungsmassnahmen lässt sie häufig monatelang auf sich warten. Es ist darum begreiflich, dass das Interesse der Praxis an einer künstlichen Einleitung und Lenkung dieses Vorganges, ähnlich etwa, wie bei der alkoholischen Gärung, bis heute sehr gross ist.

Der biologische Säureabbau und die daran beteiligten Bakterien sind durch die klassischen Arbeiten von *Müller-Thurgau* und *Osterwalder* <sup>1)</sup> anfangs dieses

\*) Vergl. I. Mitteilung (Schweiz. Z. Obst-Weinbau **68**, 127-29, 144-48 (1959).

Jahrhunderts erstmals eingehender beschrieben worden. Diesen Arbeiten sind zahlreiche weitere Beiträge anderer Autoren zum Thema gefolgt.

Ueber die systematische Zugehörigkeit der säureabbauenden Bakterien sind wir heute besser orientiert. Neben homofermentativen Arten, welche *Lactobacillus plantarum* nahe verwandt scheinen, sind vorwiegend heterofermentative Formen wie *L. buchneri*, *L. brevis*, *L. fermenti*, aber auch *Leuconostoc*-Arten in Weinen festgestellt worden. Von einigen wichtigen Stämmen kennt man auch ihren Wuchsstoffbedarf und wir kultivieren sie in voll synthetischen Nährmedien. Leider ist es aber auch heute noch nicht möglich, den so wichtigen Vorgang des biologischen Säureabbaues in der Praxis der Weinbereitung mit Sicherheit einzuleiten und zu lenken.

Schon die ersten Autoren, wie z.B. *Koch* <sup>2)</sup> machten in ihren Arbeiten darauf aufmerksam, dass die Entwicklung des Säureabbaues in den Weinen in einem Zusammenhang mit der Hefe stehen müsse. Die Beobachtung, dass ruhende Hefezellen einen günstigen Einfluss auf die Entwicklung der säureabbauenden Bakterien ausüben, wurde oft erwähnt. In der Praxis besteht denn auch seit Jahrzehnten eine Förderungsmassnahme im Zusatz von Hefen aus einem andern Wein. Diese häufig wirksame Massnahme kann nach unseren Untersuchungen nicht allein durch eine kräftigere Beimpfung des Weines mit säureabbauenden Bakterien erklärt werden.

Aus früheren Arbeiten <sup>3)4)5)</sup> ist zu ersehen, dass der vorgängigen oder gleichzeitigen Entwicklung bestimmter Hefen, Bakterien oder auch Schimmelpilze für die Anpassung an besonders tiefe pH-Werte und die Intensität der Entwicklung bestimmter schleimbildender Streptokokken grosse Bedeutung zukommt. Wir sind auf Grund eigener Beobachtungen überzeugt, dass dies auch für einige Milchsäurebakterien gilt, welche im Wein den biologischen Säureabbau verursachen.

Wir untersuchten in letzter Zeit einige Bakterien-Stämme, welche wir aus Weinen heraus züchteten, etwas näher auf ihre Ansprüche an das Milieu. In bezug auf ihre systematische Zugehörigkeit haben wir uns noch nicht festgelegt. Sie sind heterofermentativ und nahe verwandt mit *Leuconostoc mesenteroides*. In unseren Arbeiten interessierte uns u.a. die wachstumsfördernde Wirkung von Hefeextrakt. Es soll hier erwähnt werden, dass wir eine solche von sehr ähnlicher Grössenordnung auch in einem Proteosepepton feststellten.

### *Nährmedien*

Als Nährmedien wurde Difco Folic Acid Assay Medium B 318 <sup>6)</sup> mit Zusatz von Folsäure verwendet. Es enthält die nötigen Wuchsstoffe und auch die Aminosäuren, welche in Form von Bacto-Vitamin-Free Casamino-Acid zugesetzt werden. Der von uns besonders untersuchte Stamm «Pf 1» zeigt in ihm nur ein äusserst bescheidenes Wachstum.

Das erwähnte Medium wurde später synthetisch hergestellt und in seinem Gehalt an organischen Säuren und Kohlehydraten modifiziert. Das Optimal-pH, bei dem die meisten Versuche durchgeführt wurden, liegt zwischen 4,5 bis 4,7.

An Stelle der erwähnten Aminosäurequelle, welche ein Totalhydrolysat eines Caseins darstellt, wurden dem synthetischen Medium 15 Aminosäuren zugesetzt, wie sie im Difco Amino Acid Assay Medium [6] p. 230] angegeben sind. Da sich keine Veränderung im Wachstum der Organismen einstellte, verwendeten wir später meistens das erwähnte Total-Hydrolysat von Difco.

*Tabelle 1*  
*Modifiziertes Difco-Medium B 318*

<i>Zucker</i>	g/l
Dextrose	0-20
<i>Salze</i>	
Dikaliumphosphat	0,5
Monokaliumphosphat	0,5
Magnesiumsulfat	0,2
Natriumchlorid	0,01
Ferrosulfat	0,01
Mangansulfat	0,01
Apfelsäure	0- 8
Zitronensäure	0-10
Kaliumhydroxyd ad pH	4,2- 4,7
<i>Vitamine</i>	mcg/l
Biotin	0,4
p-Aminobenzoe-Säure	100,0
Niacin	1000,0
Riboflavin	1000,0
Pyridoxin Hydrochlorid	2000,0
Thiamin Hydrochlorid	1000,0
Folsäure	12,0
<i>Purine, N-Verbindungen</i>	g/l
Uracil	0,01
Guanin	0,01
Adenin	0,01
dl-Tryptophan	0,1
l-Cystin	0,1
Casamino Acid, vit. free	0-12
Bacto Hefeextrakt	0- 2

Kürzlich hat *Radler* <sup>7)</sup> für eine synthetische Nährlösung zum Wachstum säureabbauender Bakterien eine Kombination von 23 Amino-Säuren vorgeschlagen. Wir haben sie ausprobiert, wobei ein nur ganz unwesentlich besseres Wachstum zu beobachten war als in unserer modifizierten Difco Nährlösung (vgl. Tab. 1).

Radler selber berichtet ebenfalls von einem sehr schwachen Wachstum in seiner synthetischen Nährlösung. Es genügte aber zum vollständigen Abbau beträchtlicher Mengen (5 g/l) von Aepfelsäure. Wir können diese Beobachtungen bestätigen.

Das beschriebene Nährmedium bot uns eine günstige Grundlage zu weiteren Versuchen, in welchen das Wachstum unserer säureabbauenden Bakterien verbessert werden sollte. Zusätze von weiteren reinen Substanzen, wie Vitamin B 12 oder von Nucleotid-Diphosphorpyridin (DPN) und ATP, welche nach *Korkes* und *Ochoa*<sup>8)</sup> sowie *Ierchel et al.*<sup>9)</sup> eine Beschleunigung des zellfreien Aepfelsäureabbaues mit Hilfe des «Malic Enzyms» bewirken, waren von nur unwesentlichem Einfluss. Auch andere Zusätze wie Mn- und Mg-ionen versagten. Ein Zusatz von Difco Hefeextrakt wirkt sich aber, wie Fig. 1 zeigt, ausserordentlich kräftig auf die Vermehrung der Bakterien aus. Es sei hier bemerkt, dass wir einen positiven Effekt bei allen unseren säureabbauenden Stämmen feststellen können. Er ist aber von Fall zu Fall verschieden kräftig.

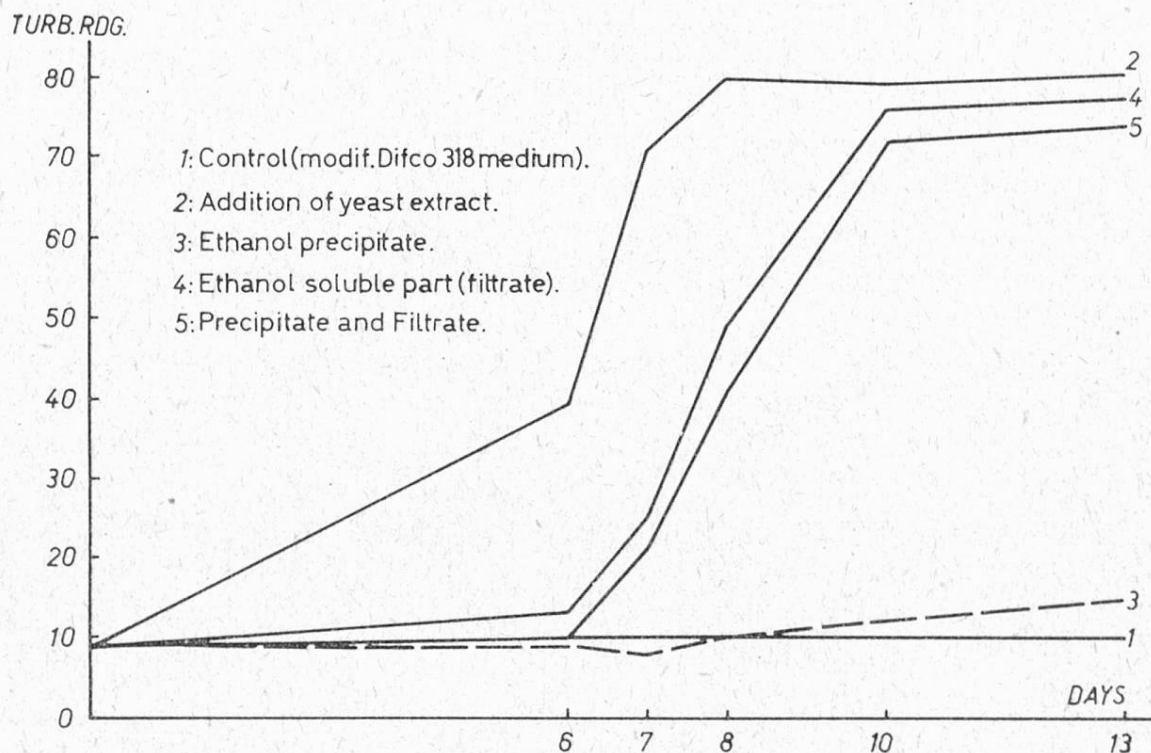


Fig. 1

Einfluss einer Alkohol-Fällung auf die wachstumsfördernde Wirkung von Hefe-Extrakt

In einer Arbeit von *Rich* und *Stern*<sup>10)</sup> ist eine detaillierte Analyse des Difco Hefeextraktes in bezug auf seinen Gehalt an Aminosäuren und Vitaminen erschienen. Ihre Ueberprüfung zeigt, dass in unserem synthetischen Nährmedium keine der vorgefundenen Substanzen fehlt. Der stark wachstumsfördernde Effekt des Hefe-Extraktes muss darum auf andere Komponenten zurückgeführt werden.

## Versuchsergebnisse

### 1. Veraschung des Hefeextraktes

Zunächst wollten wir die Frage abklären, ob eine organische oder anorganische Komponente des Hefeextraktes für die wachstumsfördernde Wirkung verantwortlich sei. Wir veraschten deshalb Hefeextrakt und setzten es in dieser Form in unsere Versuche ein. Es konnte damit eindeutig gezeigt werden, dass die Asche praktisch ohne Wirkung ist, währenddem sich das gesamte Hefeextrakt sehr günstig auf die Bakterienentwicklung und den biologischen Säureabbau auswirkte. Diese Versuche wurden in natürlichen Nährmedien (Traubensaft) durchgeführt. Es war damit klar, dass organische Verbindungen für die wachstumsfördernde Wirkung verantwortlich gemacht werden müssen.

### 2. Hydrolyse des Hefeextraktes

In weiteren Versuchen stellten wir aus vitaminfreiem Casein-«Roche» Säurehydrolysate her. Es ist bereits erwähnt worden, dass ein Totalhydrolysat von der Art, wie es im Casamino-Acid von Difco vorliegt, keine wachstumsfördernde Wirkung besitzt. Dies liess sich mit unseren eigenen Totalhydrolysaten bestätigen.

In einem Versuche hydrolysierten wir vitaminfreies Casein «Roche» bei 80 bis 82° C in 5 n Salzsäure während 1/2 bis 36 Stunden. Wir dampften unter Vacuum ab und neutralisierten den in destilliertem Wasser aufgenommenen Rückstand mit Natronlauge.

Das in unserer Nährlösung eingesetzte Caseinhydrolysat zeigte mit zunehmender Hydrolyse eine abnehmende Wirkung auf das Wachstum. Nach einer ungefähr einstündigen Hydrolyse erhielten wir die optimale Wachstumsförderung. Sie ist von der gleichen Grössenordnung wie bei Hefeextrakt. Nach 36 Stunden Hydrolyse sank die Wirkung des Hydrolysates praktisch auf den Wert des Total-Hydrolysates (Casamino-Acid), von Difco, ab (s. Fig. 2). In allen späteren Versuchen dieser Art ist mit fortschreitender Hydrolyse ein zunehmender Verlust der Aktivität sowohl von Hefe-Extrakt, als auch von Caseinpepton einhergegangen.

Es lag deshalb der Schluss nahe, dass es sich bei der wachstumsfördernden Komponente um höher molekulare Stickstoff-Verbindungen handeln könnte. Diese Vermutung ist in der Literatur bereits öfters ausgesprochen, aber auch – so kürzlich von Radler <sup>7)</sup> – oft abgelehnt worden. Es waren darum weitere Versuche zur Abklärung nötig.

### 3. Papierchromatographische Untersuchungen

Mit Hilfe der Papierchromatographie versuchten wir weitere Einzelheiten über die Natur der wachstumsfördernden Substanzen zu erhalten.

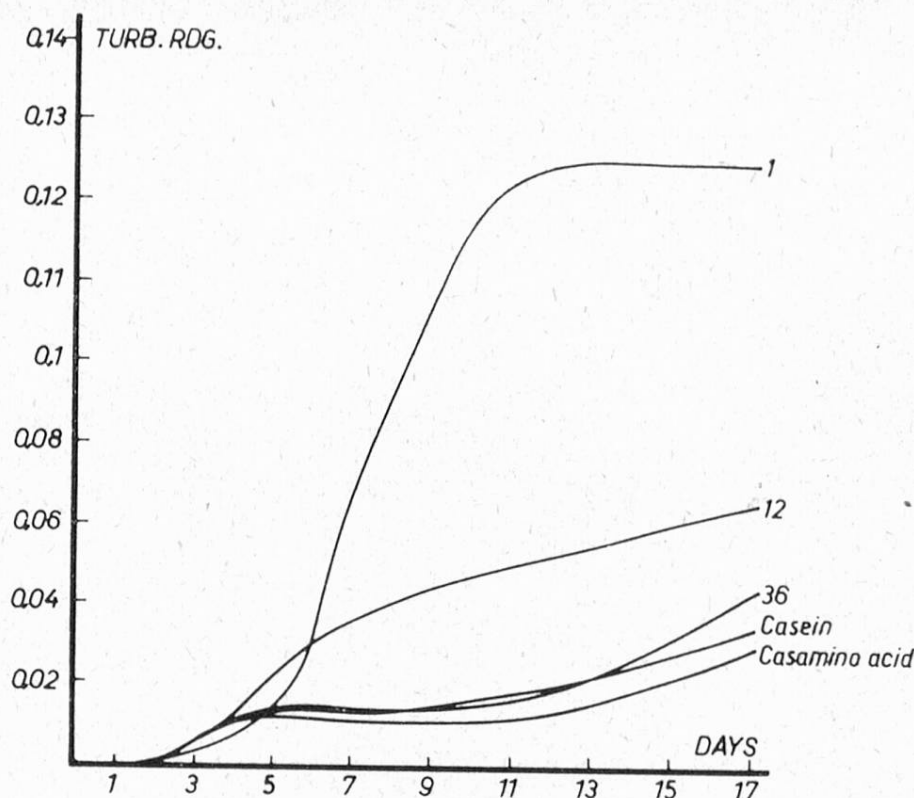


Fig. 2

### Wirkung von Casein Partial-Hydrolysaten auf das Bakterienwachstum

Partial-Hydrolysate von Hefe-Extrakt verhalten sich sehr ähnlich. Als Vergleich dient der Zusatz von Casamino acid (Difco), welches als Total-Hydrolysat eines Caseins betrachtet werden kann.

Werden während des Bakterienwachstums höhere Stickstoffverbindungen, z.B. Peptide verbraucht, so sollte sich dies anhand von Aminosäure-Bestimmungen nach der Hydrolyse feststellen lassen. Entsprechende Kontrollen unserer Nährlösung blieben leider erfolglos.

Der Rückgang des Gesamtstickstoffgehaltes in einer Nährlösung oder in den Weinen während des Bakterienwachstums ist leider ziemlich gering. Entsprechende Analysen in unserer synthetischen und halbsynthetischen Nährlösung mit einem Gehalt von 67,2 resp. 115,5 mg/0%N<sub>2</sub> ergaben Differenzen, welche rund 10, resp. 8,5 0% betragen.

In dem sehr stickstoffreichen Nährmedium Difco 320, welches wir früher ebenfalls benützten, betrug der Rückgang des Gesamtstickstoffes durch das Bakterienwachstum nur 2,5 0%.

Wenn sich der Stickstoffbedarf nicht auf einige wenige Verbindungen konzentriert, bietet die Papierchromatographie unter diesen Umständen wenig Aussicht zur näheren Abklärung unserer Frage nach der Natur jener wachstumsfördernden Substanzen.

In unseren Versuchen war es leider nicht möglich, das Verschwinden einzelner Aminosäuren vor oder nach der Hydrolyse festzustellen. Wir prüften auch mehrere Weine, in welchen wir die Apfelsäure vollständig abbauen liessen. Sie

weisen wesentlich geringere Gesamt-Stickstoffgehalte auf, welche zwischen etwa 100 bis 800 mg/l liegen und in der Regel etwa 150 bis 250 mg/l betragen und damit günstigere Voraussetzungen für die chromatographische Untersuchung boten. Auch unter diesen Umständen war uns der Nachweis nicht möglich, dass einzelne Aminosäuren während der Entwicklung des untersuchten Stammes aus dem Weine verschwinden oder in ihrer Konzentration stark herabgesetzt werden. Wir schlossen darum aus diesem negativen Ergebnis, dass der Stamm kein sehr spezifisches Bedürfnis nach bestimmten Aminosäuren hat und mit sehr geringen Mengen auskommt.

In diesem Zusammenhang durchgeführte Bestimmungen der Formolzahl vor und nach dem Wachstum der Bakterien ergaben denn auch nur unwesentliche Differenzen. In drei Versuchen sank der Formolwert nicht mehr als um 2 bis 2,5 Einheiten, wobei in der unbewachsenen Kontrolle ein Gesamtwert von 20 bis 22,5 bestimmt wurde. Es scheint also auch aus diesen Kontrollen hervorzugehen, dass die Bakterien bei ihrer Entwicklung nur in bescheidenem Masse auf Aminosäuren und einfachste Stickstoffverbindungen angewiesen sind.

#### 4. Fällung von Hefeextrakt mit Aethanol

In weiteren Versuchen fällten wir den Hefeextrakt mit verschiedenen Alkoholkonzentrationen. Bei einer Fällung im Verhältnis 1 : 4 mit 96 %igem Alkohol entsteht ein kräftiger Niederschlag, welcher abfiltriert wurde. Die Bestimmungen des Gesamtstickstoffgehaltes in Filtrat und Niederschlag ergaben folgende Werte:

Hefeextrakt:	121,5 mg N <sub>2</sub> /g
Alkoholniederschlag:	26,6 mg N <sub>2</sub> /g
Alkohollöslicher Anteil:	98,2 mg N <sub>2</sub> /g
Differenz:	3,3 mg = 2,9 %

Durch die alkoholische Fällung wurde der Hefeextrakt in zwei Fraktionen geteilt. Diese konnten in weiteren Versuchen auf ihre wachstumsfördernde Wirkung hin geprüft werden.

In mehrfacher Wiederholung zeigt sich dabei, dass der grösste Teil der Aktivität im Filtrat verbleibt (Fig. 1). Es scheint aber auch im Niederschlag eine, wenn auch nur sehr geringe Wirkung zu verbleiben. Diese Wirkung lässt sich etwas verstärken, wenn bei der Fällung grössere Mengen von Aethanol verwendet werden.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich schliessen, dass es sich bei den wachstumsfördernden Substanzen im Hefeextrakt nicht um hochmolekulare Verbindungen handeln kann. Die Ausfällung eines geringen Anteils durch höhere Alkoholkonzentrationen lässt andererseits vermuten, dass sie in bezug auf ihre Molekulargrösse eine Zwischenstellung einnehmen könnten. Die Vermutung über die eher niedermolekulare Natur der aktiven Substanzen bestätigt sich auch in einem Dialyse-Versuch. Bei einer zweitägigen Dialyse gegen fliessendes Wasser in einem Cellophan-Schlauch verlor das Präparat mehr als zwei Drittel seiner Aktivität.



### 5. Versuche mit Ionenaustauschern

Im Bestreben, die wachstumsfördernde Komponente des Hefeextraktes näher zu charakterisieren und sie etwas anzureichern, führten wir noch Versuche mit Ionenaustauschern durch. Wir wählten dabei zuerst den schwach sauren Kationen-Austauscher «JRC-50». Durch die bereits erwähnte Aethanol-Ausfällung befreiten wir den Hefeextrakt von seinen hochmolekularen Eiweissverbindungen. Das Filtrat mit dem Hauptanteil der Aktivität wurde mit dem Austauscher behandelt und damit die basischen Aminosäuren aus ihm entfernt.

Durchlauf und Eluat wurden im Wachstumsversuch auf ihre Aktivität hin untersucht. Dabei verblieb die Hauptaktivität im Durchlauf. Das Eluat (basische Aminosäuren) wies erwartungsgemäss nur eine geringe Aktivität auf (vgl. Fig. 3). Von besonderem Interesse ist aber, dass beide Fraktionen vereinigt, praktisch wieder die gleiche Aktivität aufweisen, wie das Filtrat aus dem Alkoholniederschlag (vgl. Fig. 1 mit Fig. 3).

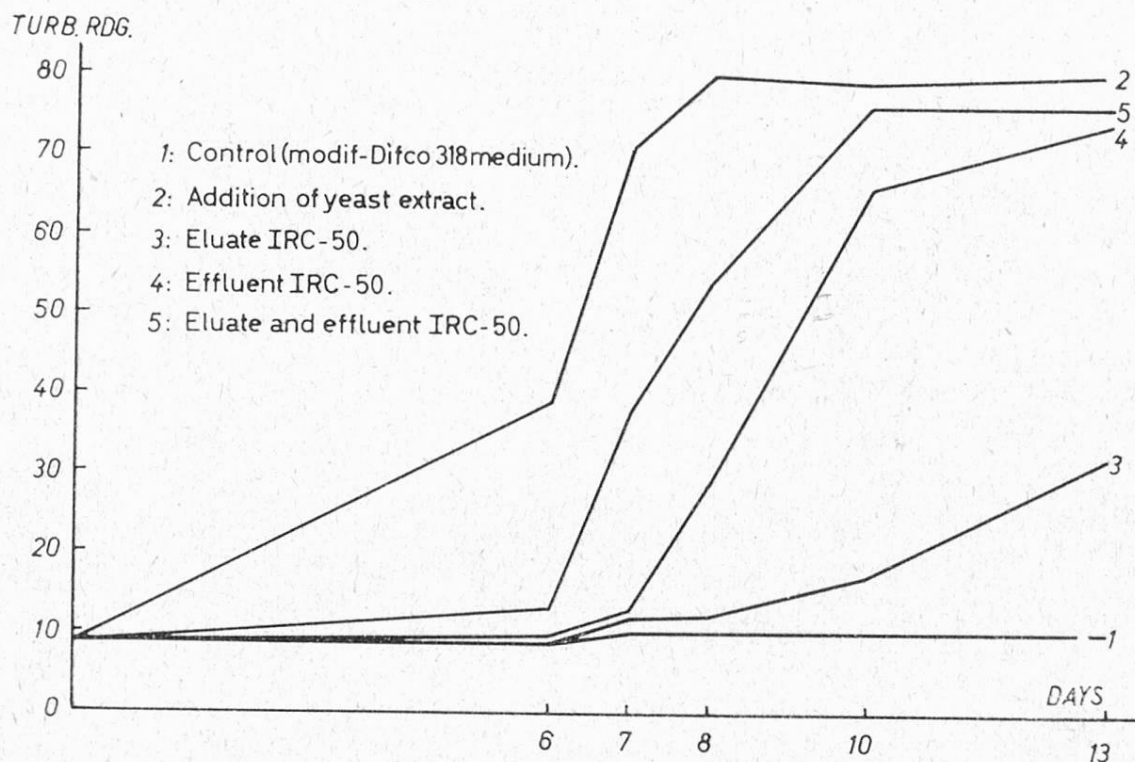


Fig. 3

Einfluss des schwach sauren Kationen-Austauschers «IRC-50» auf die wachstumsfördernde Wirkung des alkohollöslichen Anteils eines Hefe-Extraktes

1 und 2 = Kontrolle ohne, resp. mit Zusatz von Hefe-Extrakt. 3 =  $\text{NH}_3$ -Eluat, 4 = Durchfluss, 5 = 3 + 4.

Wir haben bei diesen Versuchen praktisch keinen Aktivitätsverlust zu verzeichnen. Dies ist anders, wenn wir an Stelle des schwachen Austauschers «JRC-50» den stark sauren Kationen-Austauscher «Dowex-50» (50/100 mesh) verwenden.

Wie wir in Vorversuchen feststellen konnten, hält dieser Austauscher hochmolekulare Stickstoffverbindungen zurück. Die Stickstoffbilanz eines entsprechenden Versuches ist in der Tabelle 2 zusammengestellt.

*Tabelle 2*  
*N-Bilanz mit «Dowex-50»*  
(Gesamt N in mg/10 ml)

	Proteosepepton	Proteosepepton, alk. löslicher Teil mg N <sub>2</sub> /g	Casamino-Acid. (Totalhydrolysat)
Gehalt der Ausgangslösung	24,08 (100 %)	98,2 (100 %)	16,70 (100 %)
Gehalt in Durchlauf und Spülwasser	4,05 ( 16,9 %)	12,6 ( 11,6 %)	0,14 ( 0,8 %)
Gehalt des NH <sub>3</sub> -Eluates	14,07 ( 58,5 %)	87,5 ( 89,0 %)	16,35 ( 98,0 %)
Verlust (am Austauscher)	5,96 ( 24,6 %)	1,8 ( 1,9 %)	0,21 ( 1,2 %)

Diese Zahlen zeigen, dass der Austauscher Dowex-50 Aminosäuren und einfache Peptide fast quantitativ zurückhält und sie durch Ammoniak-Eluierung praktisch quantitativ wieder abgibt. Die Verluste am Austauscher hielten sich in mehreren Versuchen im Rahmen von 1 bis 2 %. Dass auch einige einfache Peptide durch den Austauscher zurückgehalten werden, lässt sich papierchromatographisch nach der Hydrolyse des NH<sub>3</sub>-Eluates nachweisen. Es resultiert dabei nur eine schwache Verstärkung einiger weniger Aminosäureflecken. Rund 25 % der höheren Stickstoffverbindungen verbleiben am Austauscher und lassen sich durch Ammoniak nicht eluieren.

Wird dagegen anstelle von Proteosepepton oder Hefeextrakt nur dessen alkohollöslicher Anteil durch den Austauscher gelassen, so zeigen sich praktisch keine Verluste mehr, was beweist, dass die Alkoholfällung tatsächlich alle hochmolekularen Stickstoffverbindungen erfasste. Demzufolge müssten die wachstumsfördernden Komponenten des Hefeextraktes relativ kleine Molekulargröße aufweisen.

Die Wachstumsversuche mit Durchlauf und Eluat aus der «Dowex-50»-Säule sind in Fig. 4 dargestellt. Sie zeigen im Durchlauf nur eine sehr geringe Aktivität. Das NH<sub>3</sub>-Eluat weist dagegen wesentlich grössere Aktivität auf. Durchlauf und Eluat zusammen haben aber bisher noch nie wieder die Aktivität des Filtrates ergeben. Der oft wesentliche Rückgang der Aktivität muss wohl auf eine Hydrolyse im stark sauren Austauscher, kaum aber auf einen Verlust zurückgeführt werden.

Diese Versuche dürfen als weiteren Beweis dafür gewertet werden, dass die aktive Komponente des Hefeextraktes aus einfachen Stickstoffverbindungen besteht und möglicherweise Peptid-Charakter besitzt. In diesem Zusammenhang

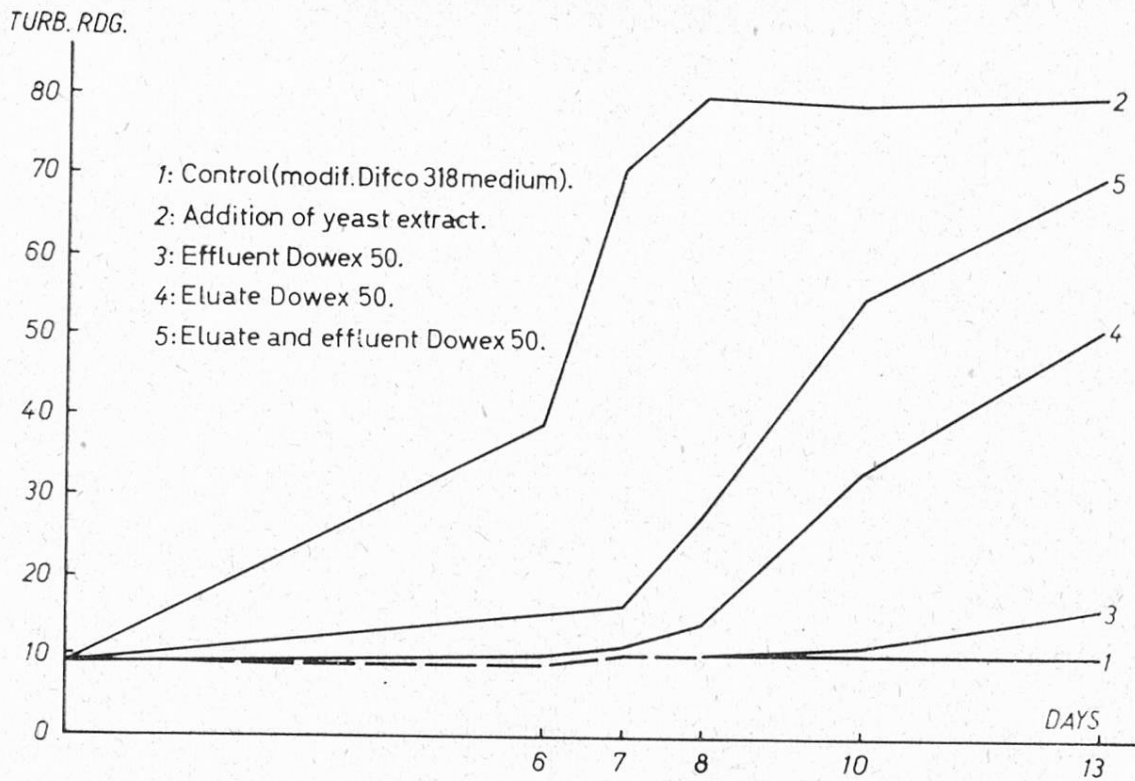


Fig. 4

Einfluss des stark sauren Kationen-Austauschers «Dowex-50» auf die wachstumsfördernde Wirkung des alkohollöslichen Anteils eines Hefe-Extraktes

1 und 2 = Kontrolle ohne, resp. mit Zusatz von Hefe-Extrakt. 3 = Durchfluss. 4 =  $\text{NH}_3$ -Eluat. 5 = 3 + 4.

ist uns durch die Firma Hoffmann-La Roche in Basel \*) eine streptogenin-aktive Substanz zur Verfügung gestellt worden, welche wir in unsere Versuche einbezogen. Es liess sich damit ein deutlich besseres Wachstum erzielen, das aber doch nicht an die Wirkung des Eluates heranreichte. Es ist aber deswegen doch möglich, dass es sich bei den wachstumsfördernden Substanzen im Hefeextrakt um streptogenin-aktive Substanzen handelt. In dem von uns durchgeführten Versuche kann die geringe Aktivität mit der eingesetzten Konzentration im Zusammenhang stehen.

#### 6. Anreicherung der wachstumsfördernden Substanzen

In unseren jüngsten Arbeiten haben wir versucht, die aktiven Substanzen papierchromatographisch anzureichern. Der Hefeextrakt wurde entlang der Startlinie in grösseren Mengen aufgetragen und mit Butanol-Essigsäure-Wasser (8 : 2 : 2) während 16 Stunden entwickelt. Der Lauf wurde hierauf in verschiedene Streifen geschnitten und deren Eluat im Wachstumsversuch eingesetzt. Dabei können wir beobachten, dass die Hauptaktivität in den beiden ersten Streifen

\*) Das uns zur Verfügung gestellte Präparat sei der Firma F. Hoffmann-La Roche in Basel hier besonders verdankt.

mit Rf-Werten von 0,17 bis 0,38 liegt. Die weiteren Streifen weisen praktisch keine erhöhte Aktivität auf. Wir hoffen damit die aktiven Substanzen anreichern zu können, um sie einer besseren Charakterisierung zuzuführen.

### *Zusammenfassung*

In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, dass Hefeextrakt eine stark wachstumsfördernde Wirkung auf *Lactobacillus*- und *Leuconostoc*-Arten ausübt, welche für die Aepfelsäure-Milchsäure Gärung in Weinen verantwortlich sind.

Die Behandlung des Hefeextraktes mit 96 %igem Alkohol zeigt, dass die wachstumsaktive Komponente vorwiegend im alkohollöslichen Teile liegt. Durch Versuche mit Ionenaustauschern kann gezeigt werden, dass es sich vermutlich um einfache Stickstoffverbindungen und möglicherweise um streptogenin-aktive Substanzen handelt, welche ihre Aktivität durch zunehmende Säurehydrolyse verlieren.

Die aktiven Substanzen konnten zur weiteren Untersuchung papierchromatographisch angereichert werden.

### *Résumé*

On montre que l'extrait de levure favorise fortement la croissance des espèces bactériennes *Lactobacillus* et *Leuconostoc*, responsables de la fermentation malo-lactique des vins.

En traitant l'extrait de levure par de l'alcool à 96 pour cent on a pu prouver que le composant activant la croissance était, dans sa plus forte proportion, soluble dans l'alcool. On a essayé d'isoler les substances actives responsables de ce phénomène au moyen d'échangeurs d'ions et par chromatographie sur papier et on est arrivé à la conclusion qu'il s'agit probablement de substances azotées simples.

### *Summary*

The growth of *Lactobacillus* and *Leuconostoc* strains causing malolactic fermentation in wines is strongly increased by yeast extract. The substances responsible for this phenomenon seem to be simple nitrogenous compounds, the isolation of which has been attempted by means of ion-exchangers and paper chromatography.

### *Literatur*

- 1) Müller-Thurgau H. and Osterwalder A. Die Bakterien im Wein und Obstwein. Gustav Fischer, Jena (1913).
- 2) Koch A. Ueber die Ursache des Verschwindens der Säure bei Gärung und Lagerung des Weines. Weinbau und Weinhandel 18 Nr. 40 (1900).
- 3) Lüthi H. Beitrag zur Kenntnis fadenziehender (linder) Weine und Obstweine, diese Mitt. 44, 30 (1953).
- 4) Hochstrasser R. Ueber einige Bedingungen beim Lindwerden der Weine. Diss. ETH Zürich. Prom. Nr. 2349 (1955).
- 5) Lüthi H. Symbiotic problems relating to the bacterial deterioration of wines. Amer. J. Enol. 8 (4) 176 (1957).
- 6) Difco Manual. Manual of dehydrated culture media. Ninth Edition (1953) p. 225 Detroit 1. Mich. USA.

- 7) Radler F. Der Nähr- und Wuchsstoffbedarf der Aepfelsäure-abbauenden Bakterien. Arch. Mikrobiol. **32**, 1-15 (1958).
- 8) Korke S. and Ochoa S. Adaptive conversion of malate to lactate and carbon dioxide by *Lactobacillus arabinosus*. J. Biol. Chemistry **176**, 463 (1948).
- 9) Jerchel D., Flesch P. and Bauer E. Untersuchungen zum Abbau der l-Aepfelsäure durch *Bakterium gracile*. Liebigs Ann. Chem. **601**, 40 (1956).
- 10) Rich M. A. and Stern A. M. Reversal of quaternary ammonium detergent inhibition of *Sacch. cerevisiae* by a fraction derived from yeast extract. Can. J. Microbiol. **2**, 453 (1956).

## Die Ausmessung von Radialpapierchromatogrammen ungesättigter Fettsäuren mit dem Mikrophotometer

Von H. Sulser

(Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Bern)

In der Analytik der Fettsäuren bestehen einerseits Methoden zur Gruppenanalyse (Kennzahlen), andererseits auch solche zur Bestimmung einzelner Säuren in einem Gemisch, zum Beispiel Oelsäure und Linolsäure aus Jodzahl und Rhodanzahl oder UV-Spektrophotometrie. Die Spezifität dieser letzteren Methoden ist relativ gering. Es muss berücksichtigt werden, was an sonstigen Bestandteilen eventuell vorhanden sein kann. Diese Feststellung ist oft mit Schwierigkeiten verbunden oder aber erheischt sie einen beträchtlichen Arbeitsaufwand, da es sich um Verbindungen von teilweise sehr ähnlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften handelt.

Es ist der Vorteil chromatographischer Methoden, gleichzeitig einen Ueberblick zu verschaffen und doch spezifisch zu sein. Man erkennt, um was für Fettsäuren es sich in einem bestimmten Gemisch handelt, und jede einzelne Fettsäure verhält sich trotzdem so, wie wenn ausser ihr gar keine andern vorhanden wären. Damit sind alle jene Fehlerquellen ausgeschaltet, welche auf der gegenseitigen Beeinflussung verschiedener ähnlicher Individuen beruhen. Es verwundert daher nicht, dass versucht wird, auf diese Weise gleichzeitig auch zuverlässige quantitative Angaben über die einzelnen Bestandteile zu erhalten.

In den letzten Jahren sind in steigendem Mass sogenannte synthetische Fette und Oele auf dem Markt erschienen. Es handelt sich dabei um eine Rückbildung von Glyceriden durch künstliche Veresterung der entsprechenden Fettsäuren. Die Oelindustrie setzte bis vor einem Jahrzehnt die bei der Raffination der pflanzlichen Rohöle als Natronseifen (soapstock) anfallenden Abfallsäuren bei der Seifenindustrie ab. Durch die starke Entwicklung der Produktion von künstlichen Netzmitteln und die dadurch bedingte Stockung dieser Absatzmöglichkeit war sie gezwungen, die Rückbildung jener Fettsäuren in die Speiseölproduktion